

FRUCTOSYL AMINO ACID OXIDASE GENE

Patent number: JP2002218982
Publication date: 2002-08-06
Inventor: ISHIDA HIROKI; HATA YOJI; KAWATO SHOJI; AKITA OSAMU
Applicant: NAT RES INST OF BREWING; GEKKEIKAN KK
Classification:
- **international:** (IPC1-7): G01N33/50; G01N33/68; C12N15/09; C12N1/15; C12N9/06; C12N15/09; C12R1/69; C12N1/15; C12R1/69; C12N9/06; C12R1/69
- **european:**
Application number: JP20010017640 20010125
Priority number(s): JP20010017640 20010125

[Report a data error here](#)

Abstract of JP2002218982

PROBLEM TO BE SOLVED: To mass-produce a fructosyl amino acid oxidase gene by culturing a transformant. **SOLUTION:** A fructosyl amino acid oxidase gene was cloned, and its base sequence was determined. A host (*Aspergillus oryzae*) was transformed by inserting the cloned new gene into a vector.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-218982

(P2002-218982A)

(43)公開日 平成14年8月6日(2002.8.6)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト(参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 1/15	2 G 0 4 5
1/15		9/06	B 4 B 0 2 4
9/06		G 0 1 N 33/50	T 4 B 0 5 0
// G 0 1 N 33/50		33/68	4 B 0 6 5
33/68		C 1 2 R 1:69)	

審査請求 未請求 請求項の数7 O.L (全15頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-17640(P2001-17640)

(71)出願人 301025634

独立行政法人 酒類総合研究所
広島県東広島市鏡山三丁目7番1号

(22)出願日 平成13年1月25日(2001.1.25)

(71)出願人 000165251

月桂冠株式会社
京都府京都市伏見区南浜町247番地

(72)発明者 石田 博樹

京都市伏見区片原町300 月桂冠株式会社
総合研究所内

(74)代理人 100075775

弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子

(57)【要約】

【解決手段】 フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子のクローニングが行われ、その塩基配列も決定された。また、このクローニングされた上記の新規遺伝子をベクターに挿入することにより宿主(麹菌)を形質転換した。

【効果】 形質転換体を培養することにより上記酵素を大量に生産することが可能となった。

【特許請求の範囲】

【請求項1】配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列を有するフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有するタンパク質。

【請求項2】配列番号2の塩基配列で示される、請求項1に記載のタンパク質をコードする遺伝子のDNA。

【請求項3】請求項2に記載のDNAの内、少なくともコーディング領域を含んでなる組換えベクター。

【請求項4】組換えベクターpNOFA。

【請求項5】請求項3又は4に記載の組換えベクターを麹菌に導入してなる形質転換体。

【請求項6】Aspergillus oryzae MEL-FAO (FERM P-17948)。

【請求項7】請求項5又は6に記載の形質転換体を利用すること、を特徴とするフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有するタンパク質を生産する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子に関するものである。詳細には麹菌(アスペルギルス・オリゼー、Aspergillus oryzae)より新規に単離したフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子を用いて、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼを大量に生産させ、フラクトシルアミノ酸の測定用の臨床検査試薬など様々な産業分野に利用することを可能にするものである。

【0002】

【従来の技術】食品が加工や保存中に着色する現象は褐変現象と呼ばれている。褐変現象の中には味噌や醤油のように食品固有の色調を与えるために必要な場合もあるが、褐変は食品の外観品質を低下させ、風味の劣化を伴う場合が多く、一般的に食品にとって好ましい変化ではない。この褐変現象には酵素的反応と非酵素的反応がある。

【0003】非酵素的反応の代表的反応機構がアミノカルボニル反応であり、メイラード反応とも呼ばれている。この反応は、アミノ酸に代表されるアミノ化合物とグルコースやマルトースに代表されるカルボニル化合物とが反応して、フラクトシルアミノ酸を包含するアマドリ化合物と呼ばれる中間体を経て、最終的に褐変性物質であるメラノイジンが生成される。さらにこのメイラード反応からはメラノイジンだけでなく、その中間物質として食品風味を劣化させる成分や物性を変化させる成分、さらには変異原活性を持つ成分などが生成されることも報告されている。従って、食品の貯蔵、保存においてメイラード反応の進行を防止あるいは低減することは、品質保持上非常に重要な対策である。

【0004】近年メイラード反応は食品中だけでなく、生体内でも反応が進行し、人体に重大な影響を及ぼしていることが分かってきた。例えば、アルブミンやヘモグ

ロビンなどの血清蛋白は血糖とメイラード反応を起こして血清蛋白の機能低下を発症させる。このように、メイラード反応の進行状況や反応生成物は、食品だけでなく生体内を含めて広く管理する必要性が指摘されている。

【0005】メイラード反応は、中間体が多い、中間体が不安定なものが多い、などの理由でその反応速度を定量することは非常に困難である。その中で、血清蛋白と血糖とのメイラード反応生成物であるフラクトシルアミノ酸を定量する方法が報告されている。これは血中でのメイラード反応進行の指標となり、網膜症や腎症などの血管合併症の成因診断に利用されている。

【0006】これまで、このフラクトシルアミノ酸の定量は、高速液体クロマトグラフィーによる方法や抗原抗体反応であるELISA法などが報告されているが、現在ではフラクトシルアミノ酸オキシダーゼを用いる酵素法が主流である。この酵素法は、操作手順が簡便で液体クロマトグラフィーのような高価な分析機器を必要としない優れた方法である。またそのフラクトシルアミノ酸の酸化酵素の供給源としては、コリネバクテリウム属(特公平5-33997)、アスペルギルス属(特開平3-155780)、フザリウム属、ジベレラ属(特開平11-243950)、ペニシリウム属(特開平11-46769)などがあげられる。しかしながら、フラクトシルアミノ酸測定用酵素としての、安定性、生産性、基質特異性などすべての条件を満足する酵素は発見されていない。そして現在においても、より基質特異性が高く、より安価なフラクトシルアミノ酸オキシダーゼの探索が求められている。

【0007】一方、麹菌アスペルギルス・オリゼは、清酒醸造で長年使用してきた微生物で、非常に高いタンパク質分泌能を有する。この麹菌の中に産業上有用な活性を持つフラクトシルアミノ酸オキシダーゼの遺伝子が存在すれば、麹菌での大量生産が可能であり、上記の生産性の問題と異種遺伝子発現の問題の両方を一気に解決できることが期待される。また、麹菌は液体培養から固体培養まで、酵素生産に応じて様々な培養が可能であり、各産業上の用途に合わせた酵素生産ができる。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】食品中や生体中に存在するメイラード反応から生成するアマドリ化合物の一種であるフラクトシルアミノ酸の測定に役立つだけでなく、試薬その他の用途に使用できるフラクトシルアミノ酸オキシダーゼについては、従来、その供給量に問題があり、大量供給、安定供給が求められてきた。本発明者らが解決しようとする課題は、新規フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子を用いて様々な産業に利用可能なフラクトシルアミノ酸オキシダーゼを効率的に生産させることである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達

成するためになされたものであって、銳意研究の結果、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼをコードする遺伝子のクローニング及びその塩基配列の決定に成功し、更に、該遺伝子を含有した形質転換体の作成、該遺伝子の発現（しかも真核生物による高発現）、該形質転換体の培養によるフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ又はその酵素活性を有するタンパク質の製造（しかも大量製造）にも成功し、本発明の完成に至ったものである。以下、本発明について詳述する。

【0010】フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子をクローニングするため、スマ培養を行ったA. oryzaeの菌体よりmRNAを調製し、このmRNAから合成したcDNAライブラリーを構築する。このライブラリーの塩基配列を網羅的に決定し、各配列と既知遺伝子データベースとのホモロジーを検索する。これらのcDNAクローンからシゾサッカロマイセス・ポンベ（*Schizosaccharomyces pombe*）のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子と高いホモロジーを示すクローンを検索し、本クローンからA. oryzaeのフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子を単離する。

【0011】単離した遺伝子はフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子であって、本遺伝子は、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼをコードする遺伝子、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有するタンパク質をコードする遺伝子、これらの遺伝子の少なくともひとつを含有する遺伝子、から選ばれる少なくともひとつを指すものである（以下、単にフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子ということもある。）。本発明においては、このようにして単離したフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子は、これを宿主に導入して発現せしめ、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ又はフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有するタンパク質を製造するものである。なお、本発明において、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有するタンパク質にはフラクトシルアミノ酸オキシダーゼも含まれるものである。

【0012】宿主としては、各種微生物が適宜使用可能であるが、本発明においては真核生物を利用することが可能であって、目的酵素を効率よく大量に生産できるという特徴を有する。真核生物、例えば麹菌A. oryzaeは清酒、醤油、味噌などの我が国の伝統的発酵産業で使用されてきた糸状菌である。本菌株の特徴は、上記発酵産業で有用なタンパク質を非常に大量に生産することである。本菌株が持つ高い蛋白生産能と醸造微生物としての安全性から、異種蛋白生産の宿主として注目されている（*Biotechnology*, 6, 1419 (1988)、特開昭62-272988）。本発明者らの研究から、A. oryzaeを用いた異種蛋白生産においては、*Aspergillus*属などの近縁の遺伝子であれば、その生産能はさらに増大することが認められた。特にA. oryzaeの遺伝子を、A. oryzaeの高発現プロモーター制御下で発現させた

場合、非常に大量のタンパク質が生産されることを見いだした（特願平11-154271、特願2000-36754）。本発明は、この系を利用することによって、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子を麹菌で効率的に発現せしめ、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼを大量生産することにはじめて成功したものである。

【0013】上記により単離したフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子は、単独で、あるいは麹菌のチロシナーゼ遺伝子（m e 1 O遺伝子：*Biochem. Biophys. Acta.*, 1261(1), p. 151, 1995）のプロモーターや固体培養において特異的に大量発現する麹菌由来のグルコアミラーゼ遺伝子（g 1 a B）のプロモーター（特願平11-154271、特開平11-243965）のような高発現プロモーターと共に、A. oryzaeにて発現させて、高純度な酵素蛋白を大量に生産させるものである。

【0014】遺伝子導入方法としては常法が適宜利用されるが、例えば宿主としては、n i a D変異株（硝酸を資化できない麹菌変異株：*Nitrate Reductase*欠損株、例えは*Aspergillus oryzae* 1013-niaD (FERM P-17707)）を用いる公知方法により、目的遺伝子であるフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子と形質転換用マーカー遺伝子であるn i a D遺伝子（Unkle, E. S. et al., *Mol. Gen. Genet.*, 218, p. 99-104, 1989）を同時に導入する。この遺伝子導入の際に、ベクター配列などの異種遺伝子を排除することにより、異種遺伝子を全く含まないセルフクローニング株の形質転換体を得ることができる。また、遺伝子導入の際に、例えはA. oryzae由来のグルコアミラーゼのシグナルペプチドを遺伝子工学的に連結させることにより、菌体外に大量に分泌発現する形質転換体を得ることもできる。そして、このようにして得た形質転換体を培養することにより、目的酵素を菌体内又は菌体外に大量分泌させることができる。

【0015】このように本発明によれば、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子をA. oryzaeから単離するのに成功し、酵素蛋白をA. oryzaeによって大量に生産させることに成功したものである。そのうえ更に、該異種遺伝子を導入する場合、A. oryzae以外の異種DNAが混入しない方法を採用することにより、セルフクローニング株となり、組換え微生物の規制からも除外されるという著効が奏される。したがって、本発明によって製造されたフラクトシルアミノ酸オキシダーゼは、工業的用途のみならず、飲食品、医薬品、化粧品等への用途も可能である。以下、本発明を更に具体的に説明する。

【0016】cDNAライブラリーの塩基配列を網羅的に決定したデータベースより、シゾサッカロマイセス・ポンベ（*Schizosaccharomyces pombe*）のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子と相同性を示すクローンを抽出した。このcDNAクローンをプローブとして、

A. oryzae の EMBL 3 ファージライブラリーより、染色体のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子を含むポジティブクローンを選択した。得られたポジティブクローンをテンペレートとして、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼのコーディング領域、プロモーター領域、ターミネーター領域を含む全長 3 kb についてその全塩基配列を決定した。その結果、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子はインtron を 2 個含み、遺伝子から推定されるタンパク質のアミノ酸配列は 439 残基であり、*Schizosaccharomyces pombe* のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼとのホモロジーはアミノ酸レベルで 33% であった。また本遺伝子のプロモーター領域には、-245 bp には C T - r i c h r e g i o n の真核生物プロモーターに特徴的な配列が存在していた。

【0017】上記により決定した該遺伝子の全塩基配列を配列番号 2 (図 3、図 4、図 5) に示し、この塩基配列から推定されるタンパク質のアミノ酸配列を配列番号 1 (図 1、図 2) に示す。

【0018】次に、この遺伝子のコーディング領域を、*A. oryzae* での高発現プロモーターである *me10* プロモーター下流に連結し、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼの麹菌での高生産を検討した。*A. oryzae* の遺伝子発現ベクターにフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子のコーディング領域 (ATG 下流 1.5 kb) を連結し (図 9)、*A. oryzae* の *n i a D* 変異株に導入した。その結果、*me10* プロモーター制御下において対照株とは有意なフラクトシルアミノ酸オキシダーゼが菌体内に生産され、本遺伝子にはフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有する蛋白がコードされていることが確認された。

【0019】更に、本遺伝子産物の実用的供給を考慮に入れて *A. oryzae* の菌体外へ分泌生産させることを試みた。上記発現系の *me10* プロモーター下流に *A. oryzae* 由来のグルコアミラーゼ遺伝子 (特願平 11-154271) のシグナルペプチド領域を連結し、その直後にフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子のコーディング領域 (ATG 下流 1.5 kb) を連結させた。これを上記の形質転換法にしたがって、*A. oryzae* の *n i a D* 変異株に導入した。その結果、*me10* プロモーター制御下における液体培養において対照株とは有意なフラクトシルアミノ酸オキシダーゼが菌体外に分泌生産され、最終的に 0.5 g / 1 L - b r o t h の大量分泌生産が可能となった。

【0020】得られた形質転換体の内、好適なものひとつを工業技術院生命工学工業技術研究所に F E R M P - 17948 として寄託した。*me10* プロモーターの塩基配列は、配列番号 5 及び図 8 に示す。

【0021】以上の結果より、クローニングした遺伝子断片には、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有する蛋白がコードされていることが確認できた。また、

この遺伝子を用いて、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ蛋白を高分泌生産させることが可能であり、生産されたタンパク質はフラクトシルリジン、フラクトシルアラニンその他各種のフラクトシルアミノ酸の測定試薬、測定キット、研究用ないし工業用酵素剤の他様々な産業分野で応用が可能であることも確認された。以下、本発明の実施例について述べる。

【0022】

【実施例 1】フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子のクローニング

液体培養から得られた m R N A による c D N A ライブラリー (E S T ライブラリー) の中より、*Schizosaccharomyces pombe* のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子に相同意の高いクローン AC 3108 を選択した。次にこのクローンをプローブとして Lambda E M B L 3 ファージを用いたアスペルギルス・オリゼー O - 1013 株 (生命工学工業技術研究所寄託 F E R M P - 16528) の染色体ジーンライブラリーより、ブラークハイブリダイゼーション法によりフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子をクローニングした。

【0023】E S T 配列をもとにプローブを作成するため、下記に示す 2 種類のオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、次いで *A. oryzae* R I B 40 株のゲノムをテンペレートとして P C R を行い、反応生成物をランダムプライムラベリング法により蛍光標識してプローブとした。上記 2 種類のオリゴヌクレオチドプライマーの内、一方は、センスプライマーであって、その塩基配列は配列番号 3 (図 6) に示され、他方は、アンチセンスプライマーであって、その塩基配列は配列番号 4 (図 7) に示される。

【0024】この方法により約 1 0 0 0 0 個のファージクローンの中から、上記のプローブとハイブリダイズするクローン入 F A 66 を単離した。上記のオリゴ D N A をプライマーとしてジデオキシ法により D N A 塩基配列を決定し、本クローンが確かに目的のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子であることを確認した。

【0025】

【実施例 2】フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子の塩基配列の決定

ポジティブクローン入 F A 66 株をテンペレートとしてフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子の全塩基配列の決定を行なった。プロモーター部分、コーディング領域、ターミネーター部分をあわせて、3 kb の配列を決定した (配列番号 2 : 図 3、図 4、図 5)。上記配列の内、1 の位置から 1037 の位置までがプロモーター部分であり、1038 の位置から 2551 の位置までの領域がコーディング領域であり、2552 の位置から 2953 の位置までがターミネーター部分である。

【0026】また、*Schizosaccharomyces pombe* のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子とのホモロジー検

素の結果から、このフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子にはインtronが2つ存在し、そのコーディング領域は1514 bpであり、塩基配列から推定されるタンパク質は、439残基であることが明らかとなった。(配列番号1:図1、図2)。

【0027】

【実施例3】フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子の麹菌への導入

得られたフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子(fa o A)の中のコーディング領域(配列番号2の1038~2551)を麹菌の高発現プロモーターであるme10プロモーター(その塩基配列を配列番号5(図8)に示す)の下流に連結した。さらに、この融合遺伝子を麹菌発現ベクターであるpIN93のPstIサイトに

(表1)

形質転換体のCzapek-Dox培地での菌体内フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ生産

フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ生産性 (U/mg-蛋白質)	
対照株	ND
形質転換体	10.8

基質はε-フラクトシルリジンを用いた。

【0030】その結果、fa o A遺伝子を導入した形質転換体は、菌体内に対照株とは有意に高いフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性が認められた。この結果、単離したfa o A遺伝子には、フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を有する蛋白がコードされていることが確認できた。これらの形質転換体の内、そのひとつをAspergillus oryzae MEL-FAOと命名し、生命工学工業技術研究所にFERM P-17948として寄託した。

【0031】

【実施例4】組み換えフラクトシルアミノ酸オキシダーゼの大量分泌生産

本遺伝子産物の実用的供給を考慮に入れてA. oryzaeの菌体外へ分泌生産させることを試みた。上記発現系のme10プロモータ下流にA. oryzae由来のグルコアミラーゼ遺伝子gl a B(特開平11-24

(表2)

形質転換体のCzapek-Dox培地での菌体外フラクトシルアミノ酸オキシダーゼの分泌生産

フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ生産性 (g/1L-ブロス)	
対照株	ND
形質転換体	0.58

挿入したフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ発現プラスミドpNOFAを構築した(図9)。

【0028】このプラスミドpNOFAを、A. oryzaeのniaD変異株(生命工学工業技術研究所寄託FERM P-17707)に常法に従い導入した。硝酸資化能が回復した株を遺伝子導入株として選択した。得られた遺伝子導入株を、Czapek-Dox培地にて液体培養を行い、菌体内のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性を測定した(表1)。フラクトシルアミノ酸オキシダーゼ活性の測定は、阪井らの方法(Biosci. Biotech. Biochem., 59: 487(1995))に従い行った。

【0029】

3965)のシグナルペプチド領域(開始コドンATGを含む93bp)を連結し、その直後にフラクトシルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子のコーディング領域(ATG下流1.5kb)を連結させた。A. oryzae(Aspergillus oryzae GLB-01: FERM P-15826)由来のグルコアミラーゼ遺伝子(gl a B遺伝子)中のシグナルペプチドをコードする遺伝子の塩基配列を配列番号6(図10)に示す。

【0032】これを上記の形質転換法にしたがって、A. oryzaeのniaD変異株に導入した。その結果、me10プロモーター制御下における3LのCzapek-Dox培地を用いた液体培養において対照株とは有意なフラクトシルアミノ酸オキシダーゼが菌体外に分泌生産され、最終的に0.6g/1L-brothの高純度で大量分泌生産が可能となった(表2)。

【0033】

基質は ϵ -フラクトシルリジンを用いた。

【0034】

【発明の効果】本発明により、麹菌のフラクトシルアミノ酸オキシダーゼを大量に生産・分泌することができはじめて可能となり、従来活用が困難であったフラクトシルアミノ酸の定量に利用することができる。また本フラクトシルアミノ酸オキシダーゼは各種フラクトシルアミノ酸を酸化することができるので試薬としてもきわめて有用である。

【0035】フラクトシルアミノ酸としては、次のものが例示される：フラクトシルグリシン、フラクトシルアラニン、フラクトシルバリン、フラクトシルロイシン、フラクトシルセリン、フラクトシルトレオニン、フラク

トシルシスティン、フラクトシルシスチン、フラクトシルメチオニン、フラクトシルアスパラギン酸、フラクトシルグルタミン酸、フラクトシルリシン、フラクトシルアルギニン、フラクトシルフェニルアラニン、フラクトシルチロシン、フラクトシルヒスチジン、フラクトシルトリプトファン、フラクトシルプロリン、フラクトシルオキシプロリンその他。

【0036】また、本発明は麹菌の酵素を麹菌で生産させるため、生産される酵素蛋白は非常に安全性が高く、食品、医薬品、化粧品産業などへも応用が可能な画期的な技術である。

【0037】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<;110>;	Gekkeikan Inc., Ltd.		
<;120>;	Fructosyl Amino Acid Oxidase Encoding Gene		
<;130>;	6371		
<;141>;	2001-1-25		
<;160>;	6		
<;210>;	1		
<;211>;	439		
<;212>;	PRT		
<;213>;	Aspergillus oryzae		
<;400>;	1		
Met Ala Leu Pro Pro Lys Ile Leu Ile Val Gly Gly Gly Val Phe Gly			
1	5	10	15
Leu Ser Thr Ala Leu Ser Leu Ser Arg Arg His Pro Thr Ser Glu Val			
20	25	30	
Thr Val Leu Glu Ala Ser Pro Ile Ile Pro Asn Pro Glu Gly Ser Ser			
35	40	45	
Val Asp Ala Ser Arg Ile Val Arg Ala Asp Tyr Ser His Pro Val Tyr			
50	55	60	
Thr Lys Leu Ala Asp Ala Ala Ile Glu Arg Trp Arg Asn Thr Glu Trp			
65	70	75	80
Gly Ala Glu Asp Asn Arg Tyr Ile Gln Ser Gly Leu Leu Val Tyr			
85	90	95	
Pro Glu Gly Asn Thr Asn Gly Lys Glu Tyr Ala Arg Lys Ser Tyr Asn			
100	105	110	
Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Asp Val Glu Leu Leu Pro Ser Lys Lys			
115	120	125	
Asp Val Leu Arg Val Ala His Ala Tyr Gly Glu Glu Leu Asn Val Ala			
130	135	140	
Gly Gly Tyr Val Asn Trp Gly Ser Gly Trp Ser Asp Ala Glu Ala Gly			
145	150	155	160
Val Arg Tyr Ala Lys Lys Leu Leu Asp Thr Glu Gly Lys Val Thr Phe			
165	170	175	
Lys Thr Gly Glu Val Lys Ser Leu Leu Tyr Ala Asp Gln Ser Ala Gly			
180	185	190	
Ala Ser Gln Arg Lys Val Thr Gly Val Leu Leu Glu Asp Gly Ser Ser			

atcaattgtc atatcgccaa ctaaatcttt ggtccacggc gtcctatat cgtccgaac 900
atggagccac tattctttta aaggcccccc agacttctct ctcgcacct ttctgtttct 960
gtatccattt tgcaggaaaa ggtcaacgg agtagttctt ttctcaaaga gatcattcca 1020
gtacaacggt atcagacatg gctttaccac cccaaatctt catcttaggt ggaggtgtct 1080
tcggatgtga gtatggaca cactgagctg sttcccta atctgtttt ttgttcttga 1140
attttacaca agcgaatgc cattggctcc taacatacta ccgttggat ttacggtca 1200
ctgattctct ttccaaccac acagttatcca ccgcctctc acitccccgg aggcatccaa 1260
caagcgaagt gaccgttcta gaggcgtcgc ctataatccc caaccctgaa ggctcctcag 1320
ttgacgcctc acgcacgtt cgcgtact acgtgcaccc ttgttacacg aaactcgca 1380
acgcagctat tgagcgttgg cgttaacaccc aatgggcgc cgaagataac cgatacatcc 1440
agagcggact acttctcgta tacccagaag gaaacacccaa tggccaaagaa tacgccagga 1500
agagctacaa caacgttaag gagcttagaa acgtgtcga gctactgccttcccaaaaaag 1560
acgttctcg ggtggcgcac gctacgggg aggaattgaa ttgtgggggt ggctacgtga 1620
attggggttc aggtgttgc gacgcccgaag ccggaggatcg atatgcgaag aagcttctcg 1680
acacccgaggg caaggtcacc ttcaaaaacgg gggaaatcaa ggcctcctc tatgcagacc 1740
aatctccgg tgcctctcag cgcaaggtga ctgttcttcttcttgccttgc 1800
tcaeggccga tetggctgtt ctgcgacgg gtgttggac gggtaagctc gtgcaccc 1860
gcggccgggc ctctcaaca ggccaggccg ttgcgttgcgt ccagatctcc gacgaggac 1920
agccgcact ggacacatg cctactatcc tcaacttcgc gacaggttcc ttcatcatcc 1980
cgccccggcaaa aacacttgc gtcacgccta cggctatatac aatcccaaga 2040
atgtgcctgt tccgggtgc gaggagaaa cgtgcgaatg cagtttgcgcg gaacccgggg 2100
tccaggatcc gctagaaggc gaagaaggc ttagatccgc cttgagaaat ctgctaccta 2160
gcatgggtga cggcccttc atccacactc gactctgtg gtacacagac acgtaaatcg 2220
actctagaaa ctcatagtgg gAACGCGGA aagctaacaa aaaaaccagac cccaaagggtca 2280
cttcatcatc acttatcatc ccgaccattc gaatcttcc ctgcgtacgg stggcagtgg 2340
gcacgggtac aagttccctc cgggtctgg ggacaagatc gtgcgtgc tggaaaggaa 2400
acttgagccg sagctgagcg agatttgaa atggccggcg gctgttagagg gcgagtttga 2460
agttgtggaa agccggctcg gtccgaaggg cttgcgttgcg atggacgagc tggccaaaac 2520
caagaaagca cagcggaaagg gctgtctgttattgggtgtt actaaaactg cacataagat 2580
ataccctgt agatataactt tggataaaaa agccaaataa aactgtctaa cttaaaaacag 2640
ttttgaaatg tacgaaggat accgtatgt tcattccgc aataaggctg caaggacgg 2700
gcgtgtatcta tatatacaac agcgctgtt acgtgatttgcg taggaacgcg tttgcattgt 2760
tttcactcca ttgggtccag aggctatcgta gtaaaaattaa aaaaaaaatc gtgcacaaa 2820
aaaccagggtt cattgcctga ttccaccaacc agccagtgc ttcgtccact ttgcgttcaaa 2880
ggctctagagg aatattgcag taattttcttgc tccatctgc tccgtcatct tctgcacagag 2940
tcgtgaaaac aaa 2953
<:210>: 3
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:400>: 3
gacgggtaag ctgcgtcacc tcc 23
<:210>: 4
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:400>: 4
ccctgtccca ctgccacccg tag 23
<:210>: 5
<:211>: 1173

<:212>:	DNA	
<:213>:	Aspergillus oryzae	
<:400>:	5	
gttgccttg gtc当地atcg ttcatgacac ccatcttagc catggcgct gtagagcagg		60
ttacatttca tggccgtta atccgaatcc agtgcttgc catgtgcgc cacatgtct		120
gtgttattct attctgtgtt ataatagtgt gatttattgc gtttggcgt ttcagttgtat		180
tcgactggcc ttgcacatta ctctcgatt ccacagctgg ctggaggagt tatctttact		240
tcttctttgt gactgtggct gcatgaggcg cttagtatac tattcagctga tactatgtt		300
aaactgaatc acggtgcttg aaggctcgcg taaagtggtt cattggcgt tgatattaaac		360
cgagcctgt ctagaactat gactagacgg agcgccaaaga atggacgaca acaggaatac		420
tgcccgacta gccacagctg aatcctaaag aagtttgcgc gcccctgtat tcctatcctg		480
catggacgac aacatttgcgc tgacgagcta aattaggccg cagcgctagt attagaatga		540
actacggtag caatgagggg aacgcccaca agccaaattaa cagcgctagt cttgatatac		600
cgggccttagc cttatttacg ggstactgtg aggacgttgt gctgtgtca attgtctatc		660
cgtgcgcacg gtgttgacag ccactagccca tttagctcgcc cacactttca accccacacc		720
tcaaagtaag acctaaactt atttggact tccttgacgc tactatgtc tcactgttat		780
ttgactggac atgacatgca gtatcatggc gccaataaaag agagtatctc gagagttca		840
ttgcacatcgta gaaaaggctt scattccgtt gttggccggaa aaggatcat tgtaatgcgc		900
tagttgtttt gtctagctgt gatgcgggc ttgtatggac ggaggacctg gatgtcgact		960
cttcatgcaa agcccgagat agactgattt gtaacatgtg tgatgcgtat catttcattat		1020
caatacgct cgtggatatt taagaaggcc gacagtcgtg tgaatatccg ctacttcaag		1080
ttcaaaaacat catttcctacg aaaaggaaaa ccacagcttc cgcttcaaaag ccctagtcac		1140
cactagttca tcttctgtt actttggttc aca		1173
<:210>:	6	
<:211>:	93	
<:212>:	DNA	
<:213>:	Aspergillus oryzae	
<:400>:	5	
atgcggaaaca accttcctttt ttccctcaat gcccattgtc ggcgtgtcgcc gcatccgtcc		60
ttccctatcc ataaggaggca gtccggatctc aac		93

【図面の簡単な説明】

【図1】フラクトシリルアミノ酸オキシダーゼのアミノ酸配列を示す。

【図2】同上続きを示す。

【図3】フラクトシリルアミノ酸オキシダーゼ遺伝子の塩基配列を示す。

〔図4〕同上続きを示す。

〔図5〕同上続きを示す。

【図6】センスプライマー

【図7】アンチセンスプライマーを示す。

【図8】m e 10プロモーターの塩基配列を示す。

【図9】麹菌発現プラスマドpNOFAの構築及びその制限酵素地図を示す。

【図10】g1aB遺伝子のシグナルペプチド(998の位置からはじまるATG-1090の位置で終わるAC)をコードする遺伝子の塩基配列の塩基配列を示す。

〔四五〕

tttcaactcoa tttggtccag aggctatcga gtaaaaattaa aaaaaaaaaatc gtgcoacaaa	2820
aaaccagggtt cattgcctga ttcacccaacc agccagtgca ttcgtccact ttcgttcaaaa	2880
ggtctagagg aatattgcag taattttct tcctatctga tccgtcatct tctgcaagag	2940
tcgtgaaaac aaa	2953

[図1]

Met Ala Leu Pro Pro Lys Ile Leu Ile Val Gly Gly Gly Val Phe Gly
 1 5 10 15
 Leu Ser Thr Ala Leu Ser Leu Ser Arg Arg His Pro Thr Ser Glu Val
 20 25 30
 Thr Val Leu Glu Ala Ser Pro Ile Ile Pro Asn Pro Glu Gly Ser Ser
 35 40 45
 Val Asp Ala Ser Arg Ile Val Arg Ala Asp Tyr Ser His Pro Val Tyr
 50 55 60
 Thr Lys Leu Ala Asp Ala Ala Ile Glu Arg Trp Arg Asn Thr Glu Trp
 65 70 75 80
 Gly Ala Glu Asp Asn Arg Tyr Ile Gln Ser Gly Leu Leu Leu Val Tyr
 85 90 95
 Pro Glu Gly Asn Thr Asn Gly Lys Glu Tyr Ala Arg Lys Ser Tyr Asn
 100 105 110
 Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Asp Val Glu Leu Leu Pro Ser Lys Lys
 115 120 125
 Asp Val Leu Arg Val Ala His Ala Tyr Gly Glu Glu Leu Asn Val Ala
 130 135 140
 Gly Gly Tyr Val Asn Trp Gly Ser Gly Trp Ser Asp Ala Glu Ala Gly
 145 150 155 160
 Val Arg Tyr Ala Lys Lys Leu Leu Asp Thr Glu Gly Lys Val Thr Phe
 165 170 175
 Lys Thr Gly Glu Val Lys Ser Leu Leu Tyr Ala Asp Gln Ser Ala Gly
 180 185 190
 Ala Ser Gln Arg Lys Val Thr Gly Val Leu Leu Glu Asp Gly Ser Ser
 195 200 205
 Leu Thr Ala Asp Leu Val Val Leu Ala Thr Gly Ala Trp Thr Gly Lys
 210 215 220
 Leu Val Asp Leu Arg Gly Arg Ala Leu Ser Thr Gly Gln Ala Val Ala
 225 230 235 240
 Phe Val Gln Ile Ser Asp Glu Glu Gln Arg Arg Leu Glu His Met Pro
 245 250 255
 Thr Ile Leu Asn Phe Ala Thr Gly Phe Phe Ile Ile Pro Pro Arg Lys
 260 265 270

[図6]

[図7]

5' - GACGGGTAAAGCTCGTCGACCTCC -3' 5' - CCCGTGCCCACTGCCACCCGTAG -3'

[图2]

Asn Leu Leu Lys Ile Ala Arg His Ala Tyr Gly Tyr Ile Asn Pro Lys
 275 280 285
 Asn Val Pro Val Pro Gly Val Glu Gly Glu Thr Met Gln Val Ser Leu
 290 295 300
 Pro Glu Pro Gly Val Pro Val Pro Leu Glu Gly Glu Glu Ala Leu Arg
 305 310 315 320
 Ser Ala Leu Arg Asn Leu Leu Pro Ser Met Gly Asp Arg Pro Phe Ile
 325 330 335
 His Thr Arg Val Cys Trp Tyr Thr Asp Thr Pro Glu Gly His Phe Ile
 340 345 350
 Ile Thr Tyr His Pro Asp His Ser Asn Leu Phe Leu Ala Thr Gly Gly
 355 360 365
 Ser Gly His Gly Tyr Lys Phe Leu Pro Val Leu Gly Asp Lys Ile Val
 370 375 380
 Asp Ala Met Glu Gly Lys Leu Glu Pro Glu Leu Ser Glu Ile Trp Lys
 385 390 395 400
 Trp Pro Ala Ala Val Glu Gly Glu Phe Glu Gly Asp Gly Ser Arg Ser
 405 410 415
 Gly Pro Lys Gly Leu Arg Leu Met Asp Glu Leu Ala Lys Thr Lys Lys
 420 425 430
 Ala Gln Arg Lys Gly Val Leu
 435 439

[图3]

cgtttcttcc cccatcgca tagttctca gatatactcgatcatctgcgtc aaaaagctccct 60
 agctgtctga ttgtatcgat cggataacatc cctaggcaog tccatagact gtgcattgggt 120
 cacttcccgat ctgttaggagg cgtatagata cccacagttatgtcatgc cgaggacacc 180
 gaccctaga atggcatca ctttgggaga catgcgggt tttgtcttggatggagattcag 240
 gagatgtggg ttagcccgat tcggcaaccg cgatgctgtctggatggatgttggatggat 300
 acggtttagat aaactagttt ttttatacat ctaccaggaa gaggggact gttcccgaa 360
 gtatgctgca cggctcacatc cgattgaagg gagcatcata tactgaccca gaaccatcaa 420
 ctggaaatctt actgcccggat cttttaggac cggtaacagg cacttggcc ttttagcgcgg 480
 cccggcctac tcgagacgat ctcatgctga gagattaaag ggcgtcggat gtgataatca 540
 tacgatgttc attcaattgc cgtggttttt aagatcctcg ggccgatata tattttttctt 600

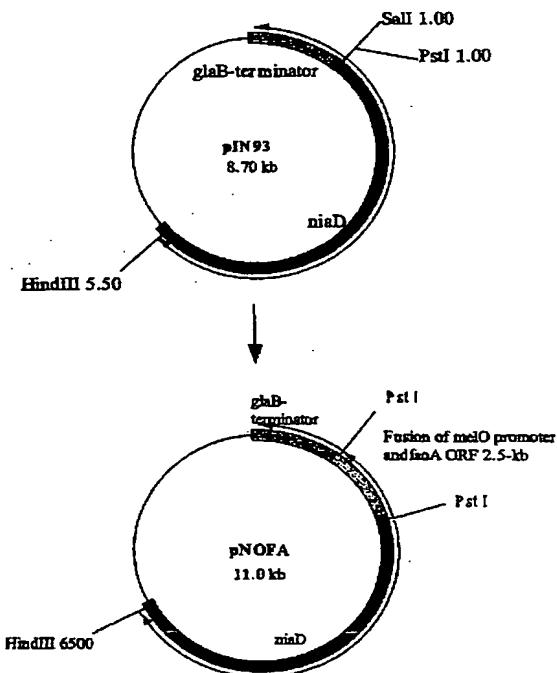
[图4]

cggaaaaagg	tgacaaacgt	ccagttgaga	gtctat	taacaaacaa	aatcac	660
caacacat	ga	tggtaatgc	atattt	gata	ctattgg	720
gat	ttcc	gg	tattagtc	gaccaaca	ag	780
oggcogag	aa	ccaaaaaaa	aaaaaaa	aaagagct	aa	840
atcaatt	gtc	atatcg	caa	at	ttt	900
atggagcc	ac	tatt	ttt	aagg	cccc	960
gtatcc	attt	tg	cagg	aaaa	gg	1020
gtaca	ac	tg	cac	ac	gg	1080
tcggat	gt	gtat	gg	aca	ct	1140
atttacaca	agc	caat	gc	at	ttt	1200
ctgatt	ct	tt	ccaacc	ac	ttt	1260
caagcga	agt	ac	gggt	ct	cc	1320
ttgac	gc	tc	tc	at	cc	1380
acgcag	ctat	tg	ac	ttt	cc	1440
agagcgg	act	tc	tc	cc	cc	1500
agagct	aca	aa	ac	ttt	cc	1560
acgtt	ct	tg	cc	cc	cc	1620
attggg	ttc	agg	ttc	gg	gg	1680
acacc	gg	gg	gg	gg	gg	1740
aatct	cc	cc	cc	cc	cc	1800
tcacgg	cc	cc	cc	cc	cc	1860
gcccc	cc	cc	cc	cc	cc	1920
agcgg	cc	cc	cc	cc	cc	1980
cgcccc	cc	cc	cc	cc	cc	2040
atgtgc	ct	cc	cc	cc	cc	2100
tccc	gg	gg	gg	gg	gg	2160
gc	at	gg	gg	gg	gg	2220
actct	ta	gg	gg	gg	gg	2280
cttcat	cat	gg	gg	gg	gg	2340
gcac	gg	gg	gg	gg	gg	2400
actt	gg	gg	gg	gg	gg	2460
agg	gt	gt	gt	gt	gt	2520
caaga	aa	gg	gg	gg	gg	2580
atacc	cc	cc	cc	cc	cc	2640
ttt	gg	gg	gg	gg	gg	2700
gcgt	at	ca	ac	ac	ac	2760

【四八】

gcttcgcctggctaaatcggtcatgacacccatctagggcatggcgttag
agcagggttacattcatggccggtaatccgaatccagtgtgcacatgtac
gccacatggctgtgttatctattctgtgtataatagtgtgatttattgcgt
ttggcgttccagttgattcgactggcettgacattactctgcattccacag
ctggctggaggagttatcttacttcttctgtgactgtggctgcattgaggcg
cttagtatactatcagctgatactatgttgaaactgaatcaccggcttgaaagg
tctgcgtgaagtggttcattggcgtgtgatattaaccgcagectgtctagaact
atgactagacggaggeccaaagaatggacgacaacacaggaatactgcccagctac
cacagctgaatcctaaagaagttgccagccctcgatattctatcctgcattgga
cggaacacattgcctgacgagctaaattaggccgcagcgttagtattagaatga
actacggtageaatgaggggaaacgcccacaagccaattaaacgtccctttcttg
atatgacgggcttagccttaattacgggtactgtgaggacgttgcctgtctg
caattgtctatccgtgccgacggtgttgacagccactagccattcagctgcaca
cactttcaacccacacaccaaagtaagacctaacttattttggacttccttg
cagctactatgtgtcactgttatttgactggacatgacatgcagtatcatggc
gccaataaaagagagatctcgagagttcattgcattcgtaggaaaggcttgcatt
tccgggtttgccggaaagggatcattggtaatgcgttagttgtttgtctagct
gtgatgcccggcttgcattggacggaggacctggagtgcagcttcattcatgcaaaag
cccgagatagactgatttgtaaacatgtgtgatgcgtatcattcattcaatac
gttcgtggatatttaagaagggcgacagtcgtgtgaatatccgtacttcataag
ttcaaaacatcattcctacgaaaaggaaaaccacagettccgcttcaagccct
agtcaacacttagttcatcttctgattactttggttcaca

[図9]



[10]

10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
GTAGTATTCTGCACTGGTATGAA	CCCTCCAA	AGCCAGGCTAGCTAA	TTCACTTCTAGACTCAT	TTAGAGTAGATTCAAC	CCAGTCGACTTGAAGG				
110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
GTTTCCCTG	GAAGAACCA	ACCACTCGAA	GTGGGAGGT	CATGTGATGAGCTG	GAAGAGATGGATGAGTC	CATAACGT	CATGAACT	TTGGCTGGTTCTT	
210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
CAACTCTCACATCT	ACTTCA	CTTCACTGGG	GATAATCCAA	GGAGCTTATGGCT	CTAGCTGAGCTG	TACGGC	ATGCGT	TATTC	AACTCAAGC
310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
TAACCTAACAA	ATACAAA	ACCGG	CACATGCC	GATGCA	TAATGGAGCT	CAAGACATT	ATCGT	CCGG	AAATGGGGGAATCGGCCATT
410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
AACTTGGG	GATCTATCT	AAAGATGAGAC	CTTAC	TTGGCATG	AAAGATGTTA	ATGGGTGAA	AGCATGCT	CTAGTTG	ATGGCCGATGTC
510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
CCGATCACACCC	GGAA	GGTTTGTACAT	CACTCC	ACTCCG	CCCCGAT	CTGGCTTAA	ACACAGTC	AAAGATAA	ATAGTCCG
610	620	630	640	650	660	670	680	690	700
GACTCGACTAGG	ACTCAGAG	GGTTCA	GATGGG	TTTCCAC	AGTGA	GAGAA	TAAGGAA	TEGGG	CAAGATGTC
710	720	730	740	750	760	770	780	790	800
GCTCCGAC	CCAA	ATATCGAT	TTCA	ATTGGAT	CCGC	AA	CGTC	ATCCGGAA	TTTGGCTGGCGAAA
810	820	830	840	850	860	870	880	890	900
CTGGCAGTC	TCAGTA	ATCTCC	GACTG	ATGCC	CGCTG	TGTTG	TTAATG	TGATG	GGGGCTT
910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
TAGGTGGCC	CTATAA	AGAGAC	CTGAA	TTCT	CGATGAGG	CAGCA	AAACAG	TACAGTC	TTGTTG
1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080	1090	1100
CGGAA	ACAC	TTCTT	TTCC	CTAATGCC	ATTG	TGGCGCT	TGCGC	ATCCG	CTTCAAC
1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200
AGGCACAGAC	ACCCAT	CGCCAA	ACAGGGG	CTCTCA	ATAAT	ATCGGCG	TGATGGCA	AGCTTGTG	AGCTCC
1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300
ATCCAAGAG	TAATCC	GACTG	TGTC	TAACAT	CCCTCA	AGGCG	CATG	ATTA	ACCTAC
1310	1320	1330	1340	1350	1360	1370	1380	1390	1400
ACGCTGG	CTACCAT	GGAA	GAAGT	GATAGAG	CAATT	TCGGGG	GAATGCG	ACTCC	AGAATT
1410	1420	1430	1440	1450	1460	1470	1480	1490	1500
GGAGGCA	GTCT	CCAA	CCCAT	CA	GGGG	CTGTG	GGATGG	CTGGG	CTTGGG
1510	1520	1530	1540	1550	1560	1570	1580	1590	1600
CGACCCCC	GGGAC	GGGGCC	ACCTTAC	GTG	CTTCCG	TTGATG	CGCAT	TGCA	ACAGCTAACA
1610	1620	1630	1640	1650	1660	1670	1680	1690	1700
TCTGGCC	AACTG	TG	CCAGAA	GATG	CTTATG	TGGG	CTAAT	ACTGGG	AGGGTT
1710	1720	1730	1740	1750	1760	1770	1780	1790	1800
TGTTGCTG	CAGG	CAAA	GGCTT	GGGAGG	GATG	GGCTT	GAAAGG	ACTCGG	AGGGAATG
1810	1820	1830	1840	1850	1860	1870	1880	1890	1900
CATCTTCAGG	ACTCTGG	AA	GGGT	CTG	TCTT	CTA	ACTAC	AA	CTGGGCTT
1910	1920	1930	1940	1950	1960	1970	1980	1990	2000
CTTTTGAT	CCAGG	CCG	CTG	TG	ATG	TG	GA	CCAT	AGCTTGTG
2010	2020	2030	2040	2050	2060	2070	2080	2090	2100
CTACG	GTAT	CAAC	ATGG	ACGTG	GAGCAG	AAAGG	CCGGC	CGTGGG	CAATCC
2110	2120	2130	2140	2150	2160	2170	2180	2190	2200
CTCATAT	CCAA	GGCTTAA	AACTA	ATG	AA	TTAGG	TCTTAC	CCAC	CCCTGGT
2210	2220	2230	2240	2250	2260	2270	2280	2290	2300
CAAGTGA	GTCA	ACTG	AAAC	TTCC	CTTCTT	CA	AGGAC	CTCC	TCCAGCTATGAGTC
2310	2320	2330	2340	2350	2360	2370	2380	2390	2400
TTACGAGG	CTG	TC	AAAG	CTAC	GGAG	CTT	CGT	GGAG	TATACT
2410	2420	2430	2440	2450	2460	2470	2480	2490	2500
GGGAC	CCCC	AGTT	GGG	CTCC	GATG	TG	GGCT	TG	AGCTGGGGCT
2510	2520	2530	2540	2550	2560	2570	2580	2590	2600
TCCACGGG	CA	GGC	AGT	CTG	CA	AGG	CC	AT	CTG
2610	2620	2630	2640	2650	2660	2670	2680	2690	2700
GTG	TAGT	TCT	CTG	AC	GG	TT	GT	AA	TTACTG
2710	2720	2730	2740	2750	2760	2770	2780	2790	2800
CAACA	AAAG	TATC	AACTT	AGT	GCT	AGA	ATA	ACTC	ACCC
2810	2820	2830	2840	2850	2860	2870	2880	2890	2900
TTCA	CGGG	GTAA	CCAA	AGA	GT	AC	GGCT	TTCTG	TGAGTGT
2910	2920	2930	2940	2950	2960	2970	2980	2990	3000
TATAC	ATAC	TCTAG	TATCT	AC	CCG	TATC	CC	GGAG	ATCCC

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト(参考)
(C 1 2 N 15/09	Z N A	(C 1 2 N 1/15	
C 1 2 R 1:69)		C 1 2 R 1:69)	
(C 1 2 N 1/15		(C 1 2 N 9/06	B
C 1 2 R 1:69)		C 1 2 R 1:69)	
(C 1 2 N 9/06		C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 1 2 R 1:69)		C 1 2 R 1:69)	

(72) 発明者 秦 洋二
 京都市伏見区片原町300 月桂冠株式会社
 総合研究所内

(72) 発明者 川戸 章嗣
 京都市伏見区下鳥羽小柳町24 月桂冠株式
 会社総合研究所内

(72) 発明者 秋田 修
 広島県東広島市鏡山3丁目7番1号 国税
 庁醸造研究所内

F ターム(参考) 2G045 AA25 BB20 CB21 DA35 DA77
 FB01
 4B024 AA11 BA08 CA01 DA11 EA04
 FA02 FA13 FA17 GA11 HA01
 4B050 CC03 DD03 LL02 LL03
 4B065 AA63X AA63Y AB01 AC14
 AC15 BA02 CA28 CA46

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.